



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101311725 B

(45) 授权公告日 2014. 03. 26

(21) 申请号 200710106645. 3

(22) 申请日 2007. 05. 25

(73) 专利权人 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司

地址 518000 广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南十二路迈瑞大厦

(72) 发明人 郭晓楠

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 刘冬 梁谋

(51) Int. Cl.

G01N 33/96 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1263266 A, 2000. 08. 16, 全文.

CN 1891815 A, 2007. 01. 10, 全文.

WO 9749982 A1, 1997. 12. 31,

审查员 蔡苗

权利要求书1页 说明书6页 附图2页

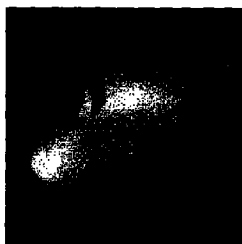
(54) 发明名称

一种五分类白细胞质控物及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供一种制备五分类白细胞质控物的方法以及根据该方法制备的白细胞质控物。根据本发明方法得到的白细胞质控物能完整地保持每一类白细胞光散射特性,稳定性又远远高于真实白细胞,从而可用于基于多角度散射光原理的五分类血液分析仪的质控。

DIFF



BASO



1. 一种制备五分类白细胞质控物的方法,所述方法包括:
 - 1) 使浓缩血细胞与溶血剂接触,其中当溶血剂为温和溶血剂时,所述溶血剂与浓缩血细胞的体积比为 3:1 — 10:1,作用时间为 3-10 分钟;当溶血剂为强溶血剂时,所述溶血剂与浓缩血细胞的体积比为 1:1 — 8:1,作用时间为 30 秒-3 分钟,任选同时使用低渗透压调节剂;
 - 2) 在所形成的反应混合液中加入固定剂,进行快速固定;
 - 3) 用等渗溶液调节上述混合液中溶血剂、固定剂的浓度;
 - 4) 加入固定剂,进行强化固定。
2. 权利要求 1 的方法,其中所述方法还包括洗涤并保存已固定的白细胞。
3. 权利要求 1 或 2 的方法,其中步骤 1) 中溶血剂为温和溶血剂。
4. 权利要求 1 或 2 的方法,其中步骤 1) 中溶血剂为强溶血剂,任选同时使用低渗透压调节剂。
5. 权利要求 1 或 2 的方法,其中步骤 2) 中固定剂为醛类固定剂,终浓度为 0.001-5%,作用 10-60 秒。
6. 权利要求 1 或 2 的方法,其中步骤 3) 中等渗溶液为 PBS 或 NaCl 溶液,所述等渗溶液与混合液的体积比为 1:1 — 5:1,共同孵育 5-60 分钟,孵育温度为 10-30℃。
7. 权利要求 1 或 2 的方法,其中步骤 4) 中固定剂为醛类固定剂,终浓度为 0.05-8%,作用 5-60 分钟,反应温度为 10-30℃。
8. 权利要求 7 的方法,其中步骤 4) 中使用终浓度 4%-8% 的甲醛、或终浓度 0.05-0.2% 的戊二醛、或它们的混合物。
9. 一种五分类白细胞质控物,所述质控物通过权利要求 1-8 中任一项的方法制备。
10. 一种全血质控物,所述全血质控物包含权利要求 9 的五分类白细胞质控物。

一种五分类白细胞质控物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明主要涉及血液质控物,具体地说,主要涉及白细胞质控物的制备方法以及根据该方法制备的白细胞质控物。

背景技术

[0002] 血液质控物是一种含有单一或多组分血细胞或血细胞模拟物的液体,具备如同血液一样的可检测特性,用于日常监控血液分析仪的准确性和精确性。随着血液分析仪的不断发展,其配套质控物也必须解决参数增加的问题,如由三分类白细胞质控物发展到五分类白细胞或更多参数的质控物。与三分类血液分析仪相比,五分类分析仪更多地利用了白细胞的电学、光学、化学染色等多方面特性,而实现白细胞的五分类检测。不同类型的五分类仪器其检测原理不同,相应的配套白细胞质控物也需依据不同原理,而更强调“量身定做”。如美国专利 6762055 提到,用于某类型血液分析仪的配套质控物,很可能与另一类型血液分析仪无法配套使用。

[0003] 分类白细胞质控物曾用花粉、乳胶颗粒、各种有机材料及固定的红细胞等模拟。现有技术对五分类白细胞模拟物的制备方法,可概括为以下两种:1) 处理动物红细胞进行模拟;2) 处理哺乳动物白细胞(通常是人白细胞)进行模拟。

[0004] 将动物红细胞用于模拟五分类白细胞组分时,因对细胞特性的要求不仅限于简单的体积大小参数,而是扩展到电导性、光散射、细胞化学染色等特性,因此,动物红细胞必须经过恰当处理,如美国专利 5320964,5512485 中提到,白细胞模拟物由至少能模拟人白细胞两种物理特性的红细胞组成。通过一定的方法如用含醛类固定剂的低渗溶液处理爬行类动物红细胞,改变红细胞内血红蛋白含量,从而改变红细胞的光学、电学特性,来模拟单核、淋巴、中性粒细胞。又如用血红蛋白变性处理液,使红细胞内的血红蛋白发生变性沉淀,来模拟人嗜酸粒细胞。美国专利 6146901 也描述用含多羟基醇、固定剂和/或非离子表面活性剂的混合溶液处理红细胞,通过改变这些组分的相对浓度和彼此作用时间,来获得需要的白细胞特征。最终,将这些白细胞类似物与可溶解的人红细胞及稳定的血小板 PLT 或 PLT 类似物混合,组成为多参数全血质控物。

[0005] 用动物红细胞模拟人白细胞的缺点是:动物红细胞在细胞形态、细胞膜、细胞浆颗粒度、细胞核等内部结构方面都与白细胞的特征相差很大,通常只能有限地模拟某类白细胞的个别特征。而且,不同类型的五分类血液分析仪,其检测原理不同,很可能出现在某类型仪器上模拟的某类白细胞粒子,在另一类型仪器上表现为细胞碎片或其他异常状态。即使如专利所说改变红细胞血红蛋白含量和性质,也无法完全模拟不同类白细胞的多种特性,尤其在荧光结合、颗粒复杂度、细胞化学染色等方面,动物红细胞很难表现出与真实白细胞一致的检测特性,而限制其加工方法的应用。对五分类血液分析仪来说,用动物红细胞模拟人五分类白细胞,实现方法难度大,复杂,且兼容性很差。本发明人的实验结果也表明,在基于多角度散射光原理的血液分析仪上,用动物有核红细胞模拟的白细胞粒子,聚类性很差,无法获得精确的白细胞分类。如图 1、图 2 的散点图分布。从已公开的专利也可看

到,没有用动物红细胞完全模拟人五分类白细胞,而用于五分类分析仪质控的制备方法。

[0006] 将哺乳动物白细胞用于制备五分类白细胞模拟物,能够更好地应对不同原理的分析仪在检测过程中反应的复杂性。总的来说,现有技术处理白细胞的方法包括溶血、固定、洗涤等步骤。如美国专利 6406915,6403377,6399388,6221668,6200500,5981282,5731205,5677145,5672474,5270208,5262327 描述用 Tris—氯化铵溶血剂完全溶解红细胞,分离出人白细胞,再对白细胞进行固定。最终保存在添加脂蛋白的保存液中,使白细胞模拟物接近真实白细胞特征。专利 6762055,6514763 的主要方法也是先用温和的化学法去除红细胞,留下完好的白细胞。再通过逐级固定方法固定白细胞,使其稳定性增强,最终获得白细胞模拟物。该专利强调溶血剂的选择性使用和独特的固定处理方法,使白细胞保存时可不需胆固醇等脂类物质的添加。美国专利 6187590,5858790 中白细胞模拟物的制备方法同样也是溶解红细胞,分离出白细胞后继续固定白细胞。发明人 Young 的美国专利 5529933 实施例中,也阐述了用人白细胞制备五分类白细胞模拟物的方法。基本思路也是溶血、固定、洗涤保存。此外,美国专利 6759246 描述了一种用猪粒细胞模拟人淋巴细胞的方法。中性粒、嗜酸粒细胞也可由猪粒细胞进行模拟,而单核细胞模拟物可源自牛粒细胞。

[0007] 用哺乳动物白细胞模拟人五分类白细胞,现有技术的方法都需要经过溶血分离白细胞;稳定或固定白细胞;洗涤保存白细胞这三个基本步骤。方法的主要缺点在于:1) 溶血过程复杂。如需用溶血剂多次进行红细胞的彻底溶解,或溶血后需反复多次洗去残留溶血剂,分离出白细胞,再进行下一步的固定处理。事实上,在完全溶解红细胞的过程中,各类白细胞的光散射特性很容易发生改变,特别是粒细胞的细胞结构复杂度散射特性会明显变化。其次,反复洗涤过程既增加白细胞损失的几率,又会进一步改变白细胞的光散射特性。参见图 4。与图 3 相比,可见粒群细胞已消失。美国专利 5270208 中提到,新鲜全血用等渗盐洗涤的越多,其直方图变化越大。即使用含醛类固定剂的溶液洗涤固定,直方图也不正确。而需添加脂蛋白保护剂。2) 固定时间较长:为增加白细胞的稳定性,现有技术的固定时间多数都会在 2 小时以上。固定剂的长时间作用也会不同程度地改变白细胞的光散射特性,如增加细胞高角度光散射强度。3) 特殊保存液成分的添加。如上述引用专利中提到的,在细胞保存液中需添加脂蛋白类保护剂。特殊成分的添加一方面增加了成本,另一方面,在组合成全血质控物后,脂类物质又会影响其中红细胞的稳定性,而需再添加其他组分来拮抗脂类物质的副作用。

发明内容

[0008] 本发明的其它方面和优点根据以下描述和具体实施方案来说是显而易见的。

[0009] 本发明所要解决的技术问题是获得能完整地保持每一类白细胞光散射特性的五类白细胞,使之与相应的各类真实白细胞具有一致或相似的被检测特征,而稳定性又远远高于真实白细胞,从而可用于基于多角度散射光原理的五分类血液分析仪的质控。

[0010] 因此,本发明主要涉及处理哺乳动物白细胞的方法,主要目的是简化复杂的溶血过程,完好地保持各类白细胞的光散射及其他特性,使其具有与新鲜血相似的特征;同时,缩短固定时间,而不影响白细胞用于质控的稳定性;在保存方面,也无需添加脂蛋白类物质,能更好地与其他细胞组分兼容。

[0011] 因此,本发明的一个目标是提供制备五分类白细胞质控物的方法,所述方法包

括：

[0012] 1) 使浓缩血细胞与溶血剂和 / 或渗透压调节剂接触；

[0013] 2) 在上述反应混合液中加入固定剂, 进行快速固定；

[0014] 3) 用等渗溶液调节上述混合液中溶血剂、固定剂的浓度；

[0015] 4) 加入固定剂, 进行强化固定。

[0016] 本发明的另一个目标是提供上述方法制备得到的五分类白细胞质控物。

[0017] 本发明的再另一个目标是提供包含上述五分类白细胞质控物的全血质控物。

附图说明

[0018] 图 1 是固定的禽类红细胞在基于多角度散射光原理的血液分析仪的两个白细胞检测通道——即白细胞四分类 DIFF 通道, 及嗜碱细胞 BASO 通道的散点图。

[0019] 图 2 是用两种不同方法处理爬行类动物红细胞后, 在基于多角度散射光原理的血液分析仪的白细胞四分类 DIFF 通道的散点图。

[0020] 图 3 是人新鲜白细胞在基于多角度散射光原理的血液分析仪上的散点图。

[0021] 图 4 是人新鲜“浓缩血细胞”用含氯化铵的溶血剂溶血洗涤后的白细胞散点图。

[0022] 图 5 是溶血并同时固定后的白细胞散点图。

[0023] 图 6 是强化固定后的白细胞散点图。

具体实施方式

[0024] 本文中使用的术语“五分类白细胞”是包括淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞的白细胞。本发明的五分类白细胞模拟物由人新鲜血液制备, 经过一系列处理步骤获得。

[0025] 本文中使用的术语“DIFF”的英文为“5-part differential”, 指白细胞五分类检测通道。

[0026] 本文中使用的术语“溶血剂”包括任何可溶解血液中红细胞的物质, 例如以阳离子、阴离子、非离子、两性离子表面活性剂为活性成分的溶血剂, 只要它们能够达到本发明的目的。具体地说, 本发明的溶血剂包括季铵盐类、皂苷、 NH_4Cl 等常规或市售溶血剂。

[0027] 本文中使用的术语“渗透压调节剂”包括任何用于调节渗透压的物质, 例如磷酸盐、柠檬酸盐、Tris-HCl 或碱金属盐。例如但非限制性地, 渗透压范围为约 75-215mOsm/Kg。

[0028] 本文中使用的术语“固定剂”包括任何可用于固定细胞的物质, 例如多聚甲醛、甲醛、乙醛、乙二醛、戊二醛等醛类化合物或甲醇、乙醇、丙酮等, 或这些固定剂的混合物。

[0029] 本文中使用的术语“洗涤液”包括任何可用于洗涤细胞的溶液等, 例如常规的等渗磷酸盐溶液、氯化钠溶液等。

[0030] 本发明中使用的“浓缩血细胞”是经低温离心浓缩、含白细胞浓度较高的健康成人新鲜全血细胞。其中, 白细胞 WBC 浓度为约 $4.0-35.0 \times 10^9/\text{L}$, 红细胞 RBC 浓度为约 $1.0-6.0 \times 10^{12}/\text{L}$ 。该浓缩血细胞于约 4°C 存放, 3 天以内使用。存放时间延长则白细胞特别是粒细胞的散射特性将出现明显的改变。

[0031] 具体地说, 本发明的一个实施方案包括制备五分类白细胞质控物的方法, 所述方法包括：

- [0032] 1) 使浓缩血细胞与溶血剂和 / 或渗透压调节剂接触 ;
[0033] 2) 在上述反应混合液中加入固定剂, 进行快速固定 ;
[0034] 3) 用等渗溶液调节上述混合液中溶血剂、固定剂的浓度 ;
[0035] 4) 加入固定剂, 进行强化固定。

[0036] 在步骤 1) 中, 可选择合适的溶血剂, 例如含 NH_4Cl 或皂苷的溶液, 或季铵盐类等市售溶血剂, 使其与一定体积比的人新鲜浓缩血细胞相作用。对于如 NH_4Cl 性质较温和的溶血剂来说, 可增加溶血剂用量, 或延长溶血剂作用时间, 例如溶血剂与浓缩血细胞的体积比为约 3 : 1 至约 10 : 1, 例如约 4 : 1、6 : 1 或 8 : 1, 作用时间为约 3-10 分钟, 例如约 5 分钟、6 分钟、8 分钟或 9 分钟。对作用较强烈的溶血剂来说, 可缩短作用时间和 / 或降低用量, 如作用约 30 秒 - 约 3 分钟, 例如约 40 秒、50 秒、1 分钟或 2 分钟。溶血剂与浓缩血细胞的体积比为约 1 : 1—8 : 1, 例如约 2 : 1、4 : 1 或 6 : 1。同时, 可配合使用低渗透压调节剂如低渗盐溶液来缓冲较强烈的溶血过程, 以优化白细胞散点图分布效果。本领域技术人员能够理解, 所使用的溶血剂的量是本领域公知的, 可由本领域技术人员根据实际情况进行调整。这种调整也在本领域技术人员公知的技术范围内。

[0037] 在步骤 2) 中进行初步固定。在快速溶血后, 用合适浓度的醛类固定剂进行快速固定, 固定剂终浓度例如为 0.001-5%, 作用 10-60 秒。例如, 使用终浓度为约 0.5-5% 的甲醛溶液 (例如约 1%、2%、3% 或 4%), 作用约 10-60 秒, 例如约 20 秒、30 秒、40 秒或 50 秒; 或者使用终浓度为约 0.001% -0.01% 的戊二醛溶液 (例如 0.002% 或 0.005%), 作用约 15-50 秒, 例如约 20 秒、30 秒或 40 秒。本领域技术人员能够理解, 醛类固定剂的作用浓度及时间也应根据不同溶血剂而进行优化, 其目的在于既要避免红细胞被部分固定, 又应稳定白细胞的光散射特性。这种优化在本领域技术人员公知的技术范围内。

[0038] 在步骤 3) 中, 同时进行溶血与固定。步骤 1) 中的短时溶血往往不能彻底溶解所有红细胞, 特别对红细胞数量多的浓缩血细胞物料来说, 会有更多的红细胞残留。残留的红细胞将最终干扰淋巴细胞的分类计数。为完全溶解红细胞, 同时保持各类白细胞光散射特性不变, 用适量的等渗溶液如 PBS、NaCl 溶液等调整上述混合液中溶血剂、固定剂和血液的浓度, 例如等渗溶液与混合液的体积比为约 1 : 1- 约 5 : 1, 例如约 2 : 1、3 : 1 或 4 : 1。然后将混合物孵育约 5-60 分钟 (例如约 10 分钟、20 分钟、30 分钟或 50 分钟), 使红细胞彻底溶解, 同时白细胞能很好的保持其结构特征。孵育温度控制在约 10°C - 30°C , 例如约 20°C 或室温。如果温度升高, 则可缩短孵育时间, 反之, 则延长孵育时间。本领域技术人员可理解, 固定剂的用量必须控制在合适范围内, 浓度太低则不能保持白细胞的散射特性, 浓度太高又会使红细胞部分固定, 同时也会改变白细胞的光散射特性。实验表明 (数据未显示), 合适浓度的固定剂甚至还可促进红细胞的崩解。其原因可能是一定量的固定剂使红细胞膜柔韧性变差, 脆性增加, 固定剂的固定效应小于溶血剂的溶血效应, 在低渗溶血环境中, 红细胞膜更容易破碎。而溶血剂可能也对白细胞膜形成打孔, 更有利于固定剂快速进入细胞, 对细胞内部结构起到固定作用。本领域技术人员也可理解, 调节溶血剂的作用条件也将获得不同质量的白细胞。溶血剂作用时间延长、温度增加、浓度或作用比例增大, 都会首先改变粒细胞特别是中性粒细胞的高角度光散射特性, 然后将会改变反映体积大小的低角度光散射特性及逐渐累及到单个核细胞光散射特性的改变。参见图 4、图 5, 与图 3 相比, 可见仅溶血处理的, 粒细胞已消失, 而溶血并同时固定处理的白细胞, 其 DIFF 通道与真实白细胞

的分类散点图基本保持一致。

[0039] 在步骤 4) 中,进行强化固定。真实白细胞的生命周期非常短,特别如粒细胞,胞浆内的颗粒有溶酶成分,颗粒崩解后,细胞很容易自溶。所以,需要对白细胞进行充分固定。为增加白细胞的稳定性,延长保存期,在上述半固定的基础上,继续进行更高浓度和 / 或不同醛类固定剂混合配比的强化固定,固定剂终浓度例如为 0.05-8%。例如,使用终浓度约 4-8% 的甲醛(例如约 5%、6% 或 7%),或终浓度约 0.05-0.2% 的戊二醛(例如约 0.1% 或 0.15%),或它们的混合物。强化固定的时间可控制在约 5-60 分钟内,例如约 10 分钟、30 分钟或 45 分钟。反应温度控制在约 10℃ -30℃,例如约 20℃ 或室温。本领域技术人员可以理解,升高温度可适当缩短固定时间。反之则可延长固定时间。强化固定时固定剂的浓度及作用时间应控制在合适范围内,高浓度、长时间的固定会增加白细胞的光散射强度,也会使红细胞、血小板碎片及蛋白粘连程度增加,从而影响最终产物的性质。处理后的细胞分布图谱参见图 6。与图 3 及图 5 相比,可见 DIFF 通道与真实白细胞的分类散点图仍基本保持一致。而 BASO 通道则显示白细胞已明显抵抗溶血剂的作用,散点图分布在界面中上位置。

[0040] 在本发明的另一个实施方案中,本发明方法还包括洗涤并保存已固定白细胞的步骤。在强化固定后,用保存液例如等渗溶液洗涤白细胞,洗尽残留的溶血剂、固定剂及红细胞、血小板碎片,并离心分离白细胞。重复数次后,最终将已固定的五分类白细胞悬浮在保存液中。

[0041] 根据以上本发明的方法,可以获得白细胞质控物,其可以很好地模拟真实白细胞的光散射特性,而用于五分类白细胞血液分析仪。因此,本发明的另一个实施方案提供根据本发明方法制备的五分类白细胞质控物。

[0042] 在本发明的再一个实施方案中,本发明还提供包含本发明的白细胞质控物的全血质控物。该全血质控物通过将本发明的白细胞质控物与 RBC 质控物、PLT 质控物等按合适比例组合而成。组合各种组分形成全血质控物是本领域公知的技术,本文不再详述。

[0043] 本领域技术人员可以理解,虽然不限于某些理论,但一般认为由于本发明采用人白细胞作为原料制备白细胞质控物,本发明的白细胞质控物在各种性质上与原始人白细胞类似,因此可在各种基于多角度散射光原理的五分类白细胞血液分析仪上通用,例如 BC-5500 全自动血液分析仪(中国深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。为达到此目的,本文中所述步骤的各种条件及其组合可根据意图使用的具体仪器进行调整,这种调整在本领域技术人员的范围内。

[0044] 根据以上描述,本领域技术人员容易了解本发明的以下主要优点:1) 加工方法简单、通用。避免了多次溶解红细胞或溶血后多次洗涤造成的白细胞光学特性改变及得率下降。对白细胞的总体加工处理时间短,而白细胞稳定性好。并且,本发明方法所获得的五分类白细胞其特性保持与真实白细胞相同,对不同原理的五分类血液分析仪来说,从理论上讲,具有良好的兼容性。或者,通过调整部分步骤或试剂配比,用该方法也可制备出不同分析仪配套的五分类白细胞质控物。2) 成本低廉:在溶血、固定、洗涤、保存过程中,不需要特殊昂贵的化学试剂,即可避免出现现有技术中提到的蛋白絮结、细胞粘集、需添加脂类支持剂等问题。

[0045] 实施例 1

[0046] 取 1 体积浓缩血细胞, 与 8 体积溶血剂 (10mM KHCO_3 , 155mM NH_4Cl , 0.01mM $\text{EDTA-Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.025% Saponin) 混合, 快速作用 5 分钟。然后加入戊二醛, 快速作用 20 秒, 戊二醛终浓度为 0.0065%。再加入等体积的等渗溶液 (0.9% NaCl 水溶液), 室温孵育 50 分钟。然后向反应混合液中继续加入甲醛及戊二醛混合液, 固定剂终浓度分别为 6.5%, 0.05%, 继续固定 40 分钟。最后用等渗盐水 (0.9% NaCl 水溶液) 洗涤 3-5 次, 每次白细胞悬液与洗涤液体积比为 1:5。洗涤后的白细胞最终悬浮在等渗盐溶液 (0.9% NaCl 水溶液) 中, 于 4℃ 保存。

[0047] 实施例 2

[0048] 取 1 体积浓缩血细胞, 与 4 体积市售溶血剂 LE01 (M-50LE0(I) 溶血剂, 产品目录号: A12-000141, BC-5500 配套试剂) 及低渗盐溶液 (每 1L 中包含柠檬酸钠 1.764g, NaCl 3.9g, 0.084g KCl, 用 5% 柠檬酸调 PH 为 7.2) 快速作用 2 分钟, 立即加入甲醛至终浓度 4%, 快速作用 40 秒。然后再加入等体积的等渗盐水 (0.9% NaCl 水溶液), 室温继续孵育 30 分钟。随后, 在反应混合液中加入戊二醛, 至终浓度为 0.1%, 继续固定 30 分钟。最后用等渗溶液 (0.9% NaCl 水溶液) 洗涤白细胞 3-5 次, 每次细胞悬液与洗涤液体积比为 1:6。洗涤后的白细胞最终悬浮在等渗盐溶液 (0.9% NaCl 水溶液) 中, 于 4℃ 保存。

[0049] 将最终获得的固定白细胞在基于多角度散射光原理的血液分析仪上进行白细胞分析, 其散点图如图 6 所示。与图 3 及图 5 相比, 可见 DIFF 通道与真实的人白细胞的分类散点图仍基本保持一致。而 BASO 通道则显示白细胞已明显抵抗溶血剂的作用, 散点图分布在界面中上位置。由此可见, 本发明方法获得的固定白细胞保持了各种白细胞的光散射特性, 从而可用于基于多角度散射光原理的五分类血液分析仪的质控。

[0050] 本文中的所有数据、图像、仪器、试剂和步骤应理解为说明性而非限制性的。虽然已结合上述具体实施方案描述了本发明, 许多修改和其它变化对于本领域技术人员是显而易见的。所有这种修改和其它变化也落入本发明的精神和范围内。

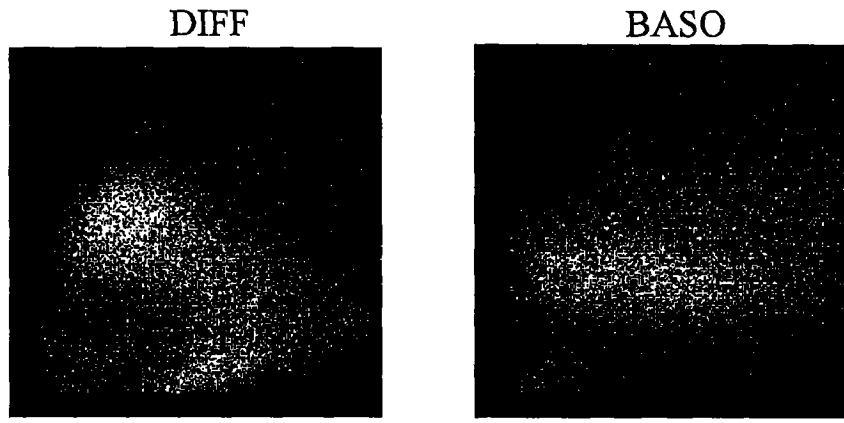


图 1

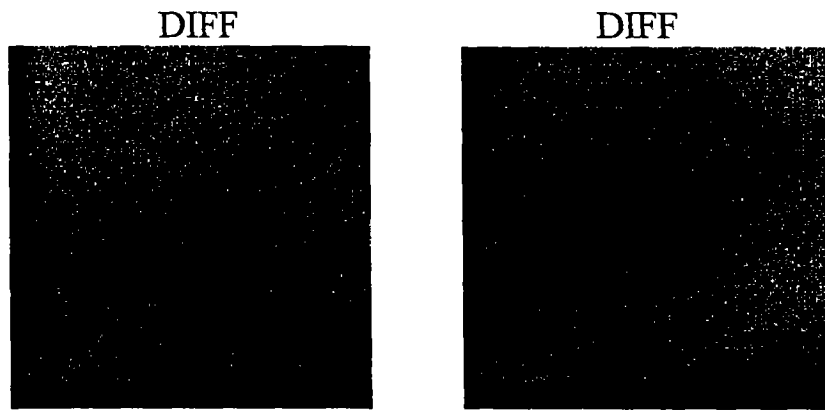


图 2

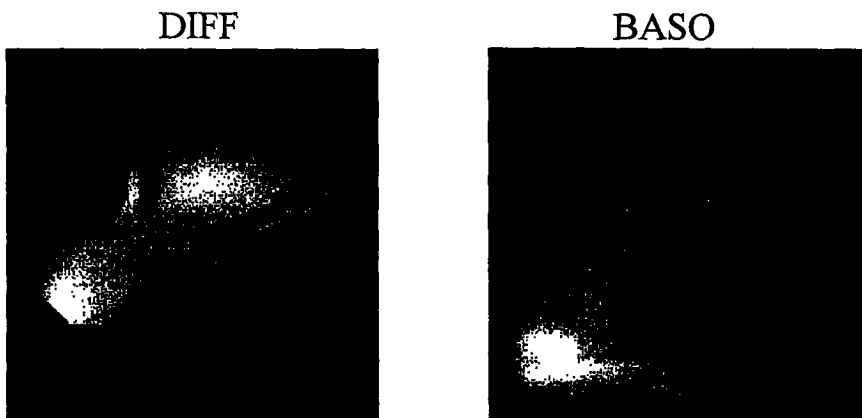


图 3

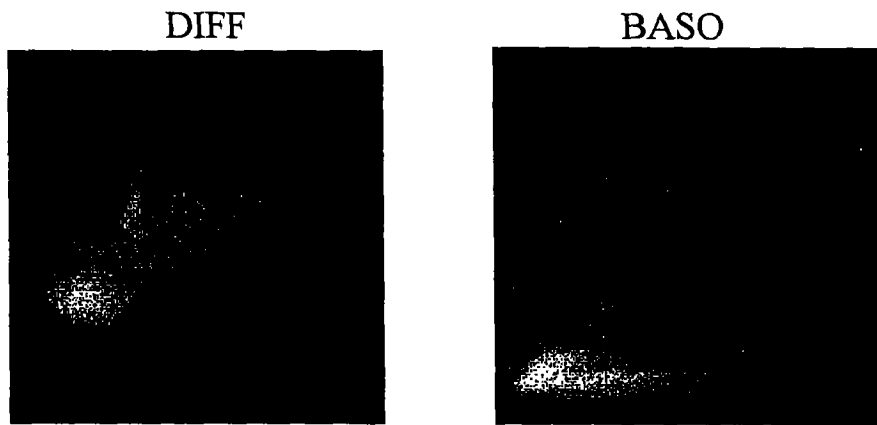


图 4



图 5

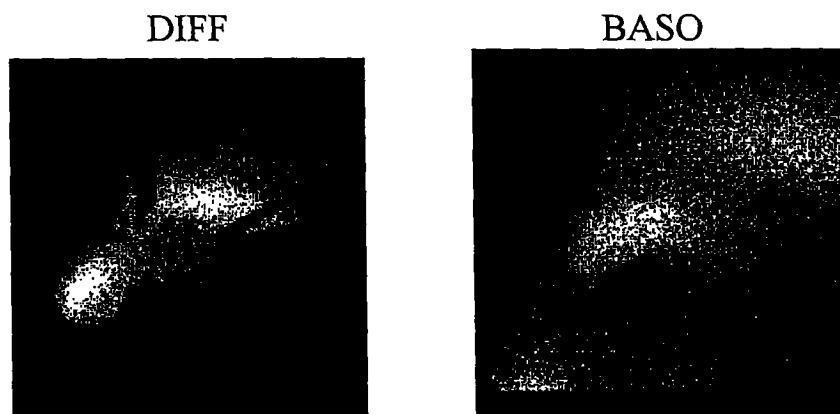


图 6